



# SENSOR FOR DETECTING NUCLEIC ACID

Publication number: JP2002195997

Publication date: 2002-07-10

Inventor: HASHIMOTO KOJI; MIYAMOTO HIROHISA; HENMI KAZUHIRO; SUZUKI KOHEI

Applicant: TOKYO SHIBAURA ELECTRIC CO

Classification:

- international: G01N33/53; C12M1/00; C12N15/09; C12Q1/68; G01N27/30; G01N27/416; G01N33/483; G01N33/566; G01N37/00; C12Q1/68; G01N33/53; C12M1/00; C12N15/09; C12Q1/68; G01N27/30; G01N27/416; G01N33/483; G01N33/566; G01N37/00; C12Q1/68; (IPC1-7): C12Q1/68; G01N33/53; C12M1/00; C12N15/09; G01N27/30; G01N27/416; G01N33/483; G01N33/566; G01N37/00

- European:

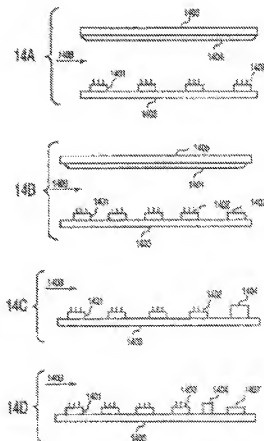
Application number: JP20010299134 20010928

Priority number(s): JP20010299134 20010928; JP20000301516 20000928

Report a data error here

## Abstract of JP2002195997

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a sensor capable of detecting various kinds of nucleic acids at a high speed as well as with high accuracy. **SOLUTION:** This sensor for detecting various kinds of nucleic acids is characterized by the possession of both plural nucleic acid chain-immobilized electrodes (1402) each having a flat surface wherein probe nucleic acid chains are immobilized and the counter-electrodes (1405) each having a flat surface parallel to that of the mating electrode, then being disposed to form a flow path allowing a test liquid (1406) through between each of respective flat surfaces of the two electrodes and also playing a role in letting the current through between the two electrodes.



(10) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2002-195997

(P2002-195997A)

(43) 公開日 平成14年7月10日 (2002.7.10)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	ナット(参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 2 G 0 4 3
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A 4 B 0 2 4
C 1 2 N 15/09		C 0 1 N 27/30	3 1 1 A 4 B 0 2 9
G 0 1 N 27/30	3 1 1	33/583	F 4 E 0 6 3
27/416		33/566	

審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 15 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特開2001-299134(P2001-299134)

(71) 出願人 000069078

(22) 出願日 平成13年9月28日 (2001.9.28)

株式会社東芝  
東京都港区芝浦一丁目1番1号

(31) 優先権主張番号 特開2000-301516(P2000-301516)

(72) 発明者 橋本 肇二

(32) 優先日 平成12年9月29日 (2000.9.29)

神奈川県川崎市幸区小向東芝町1番地 株式会社東芝研究開発センター内

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(73) 発明者 宮本 浩久

神奈川県川崎市幸区小向東芝町1番地 株式会社東芝研究開発センター内

(74) 代理人 100083161

弁理士 外川 英明

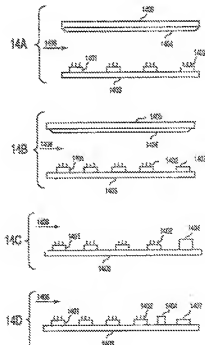
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 検出用センサ

(57) 【要約】

【課題】 本発明は、多種類の検出を高速、且つ高精度に検出することができ、検出用センサを提供することを目的とする。

【解決手段】 本発明は、フロー型検出器が固定化された平面面を有する複数の検出器固定化電極(1402)と、前記検出器固定化電極の平面面と対向する平面面を有し、前記検出器固定化電極の平面面との間に検出液(1404)の流路が形成されるよう配置され、前記検出器固定化電極との間に電流を流すための対極(1405)と、を備えることを特徴とする検出用センサである。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 アロップ核酸鎖が固定化された平坦面を有する複数の核酸鎖固定化電極と、

前記核酸鎖固定化電極の平坦面と対向する平坦面を有し、前記核酸鎖固定化電極の平坦面との間に核酸鎖の流路が形成されるよう配置され、前記核酸鎖固定化電極との間に電流を流すための対極と、を備えることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項2】 請求項1記載の核酸検出用センサにおいて、前記対極は、所定数の前記核酸鎖固定化電極に対して共通に設けられていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項3】 請求項1記載の核酸検出用センサにおいて、前記対極、前記核酸鎖固定化電極毎に1以上設けられていることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項4】 アロップ核酸鎖が固定化された複数の核酸鎖固定化電極と、前記核酸鎖固定化電極との間に電流を流すための対極と、

前記核酸鎖固定化電極毎に1以上設けられ、前記核酸鎖固定化電極と前記対極間の電圧を一定にするための参照電極と、を備えることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項5】 前記核酸鎖固定化電極と前記参照電極は、くし型電極であり、かみ合うように配置されていることを特徴とする請求項4記載の核酸検出用センサ。

【請求項6】 前記参照電極又は走査電極からの信号を入力する第1の増幅器と、

参照電位を入力して前記対極に所定の電位を印加する第2の増幅器と、

前記第1の増幅器の出力側と前記参照電位との間に接続された参照抵抗と、を更に備えることを特徴とする請求項4記載の核酸検出用センサ核酸検出用センサ。

【請求項7】 アロップ核酸鎖が固定化され、マトリックス状に配置された複数の核酸鎖固定化電極と、前記核酸鎖固定化電極との間に電流を流すための対極と、

前記複数の核酸鎖固定化電極を順次駆動する複数の走査線と、

前記複数の核酸鎖固定化電極からの検定信号を伝送する複数の信号線と、

前記複数の信号線に接続された複数のスイッチング素子と、

前記複数のスイッチング素子に接続されたA/D変換器と、を備えることを特徴とする核酸検出用センサ。

【請求項8】 前記核酸鎖固定化電極及び前記対極は、二本鎖状媒体と核酸鎖を含む核酸溶液に晒され、前記アロップ核酸鎖と核酸溶液中の核酸鎖のハイブリダイゼーションにより生じる、前記二本鎖状媒体に由来する前記核酸鎖固定化電極及び対極間の電位変化を検出することを特徴とする請求項1又は請求項4又は請求項7記載の核酸

検出用センサ。

【請求項9】 前記核酸鎖固定化電極毎に設けられ、前記核酸鎖固定化電極と前記対極間の電圧を一定にするための参照電極を更に備えることを特徴とする請求項1又は請求項7に記載の核酸検出用センサ。

【請求項10】 前記対極と前記核酸鎖固定化電極と同一平面に形成され、前記対極が前記核酸鎖固定化電極を取り囲むように形成されていることを特徴とする請求項4又は請求項7に記載の核酸検出用センサにおいて、核酸検出用センサ。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、被検液中のターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを電気化学的に検出する核酸検出用センサに関する。

【0002】

【従来の技術】近年、核酸検出用センサとして核酸鎖固定化アレイ（DNAアレイ）による遺伝子検出技術が注目を集めている（Beattie et al. 1993, Fodor et al. 1991, Khrapko et al. 1989, Southern et al. 1994参照）。

【0003】DNAアレイとは、 $10^1 \sim 10^5$ 種類の配列が異なるDNAを固定化した、数cm角のガラスやシリコンのアレイを指す。アレイ上で蛍光色素や放射線同位元素（RI）等で標識した核酸塩基対とを反応させるか、あるいは未標識の核酸塩基対と標識オリゴヌクレオチドの混合物をサンドイッチハイブリダイゼーションで反応させる、被検液中にアレイ上のDNAと相補的な配列が存在すると、アレイ上の特定部位で標識に由来する信号（蛍光強度、RI強度）が得られる。固定化しておいたDNAの配列と位置があらかじめ分かっている、核酸塩基対中に存在する塩基配列を簡単に調べることができ、DNAアレイは、微量サンプルで塩基配列に関する多くの情報が得られることから、遺伝子検出技術に止まらずシーケンス技術としても大いに期待されている（Pease et al. 1994, Farnov et al. 1996）。

【0004】核酸検出用センサ結合した核酸を検出する手法として、蛍光検出法やRI強度検出法や電気化学的検出法等がある。この中で、電気化学的手法はサンプル中の標識や電解システムが不要である。従って、システムの小型化が期待できる。これに加えて、電極を用いているので電気的な反応制御も容易に行うことが可能であるという利点を有する。

【0005】とりわけ、電気化学的手法を用いた核酸検出用センサの中でも、種類の異なるアロップ核酸鎖が固定された電極がX-Yマトリックス状に複数配置されたDNAアレイを構成するセンサは、多種類の標識を僅かな期間で検出できる極めて有用な技術として期待されて

いる。しかし、このセンサは、多数の核膜固定化電極に等しく電圧を印加しなければならない。従って、このセンサは、非線形構成が複雑であり、応答速度や精度が十分でない等の問題点を有している。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、多種類の核膜を高速、且つ高精度に検出することができ、核膜検出用センサを提供することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明に係る第1の核膜検出用センサは、アロップ核膜が固定化された平坦面を有する複数の核膜固定化電極と、前記核膜固定化電極の平坦面と対向する平坦面を有し、前記核膜固定化電極の平坦面との間に被検液の通路が形成されるよう配置され、前記核膜固定化電極との間に電流を流すための対極と、を備えたことを特徴とする核膜検出用センサである。

【0008】核膜固定化電極と対極とを対向配置したので、低減した量の被検液で高精度の測定を迅速に行なうことができる。

【0009】本発明に係る第2の核膜検出用センサは、アロップ核膜が固定化された複数の核膜固定化電極と、前記核膜固定化電極との間に電流を流すための対極と、前記核膜固定化電極と、前記対極との間に電圧を印加し、両電極間に生じる電気化学的変化を検出する二電極方式であっても良いし、前記二電極方式の核膜固定化電極又は対極にさらに参照電極をつなぐ三電極方式の電気化学的測定であっても良い。二電極方式では対極に電流が流れるため対極の電位を決めている電極/界面でのキャリアの濃度が変化し、基準となる電位自体が変化してしまうという欠点がある。一方、三電極方式においては、電流は核膜固定化電極と対極間に流れ、核膜固定化電極と参照電極の間、対極と参照電極との間ほとんど電流が流れず、また参照電極に対し所望の電位がかかるように核膜固定化電極と対極との間に電圧が印加されるので、基準となる電位（参照電極の電位）が変動しない。

【0010】各核膜固定化電極に参照電極が配置されているので、測定精度が向上する。

【0011】本発明に係る第3の核膜検出用センサは、アロップ核膜が固定化され、マトリックス状に配置された複数の核膜固定化電極と、前記核膜固定化電極との間に電流を流すための対極と、前記複数の核膜固定化電極を順次選択する複数の電流源と、前記複数の電流源の信号線に接続された複数のスイッチング素子と、前記複数のスイッチング素子に接続されたA/D変換器と、を備えたことを特徴とする核膜検出用センサである。

【0012】スイッチング素子により、信号の出力線を共有化したので、1つのA/D変換器を用いればよいので、構造が簡単になる。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明の実施の形態に係る核膜検出用センサは、下記の各構成を備えたことを特徴とする。

【0014】(1) 核膜固定化電極と対極とを対向して配置したこと。

【0015】(2) 参照電極を核膜固定化電極毎に配置したこと。

【0016】(3) スwitchング素子により、信号の出力線を共有化したこと。

【0017】本明細書において、「核膜検出用セル」は、複数の核膜固定化電極が配置された本発明の核膜検出用センサにおいて、1対の核膜固定化電極と対極を有する単位区画（単位セル）を意味する。

【0018】核膜固定化電極には、被検液中のターゲット核膜をハイブリダイズするようにアロップ核膜が固定化されている。核膜固定化電極は、本発明の核膜検出用センサにおいて、作用電極として機能する。なお、「アロップ核膜」とは、核膜固定化電極に固定化（結合化）された核膜を指す。また、「ターゲット核膜」は、前記アロップ核膜に対して相補的な塩基配列を有し、前記アロップ核膜とハイブリダイゼーション反応する核膜であって、被検液中に含まれる核膜を意味する。

【0019】また、対極は、核膜固定化電極との間に電流を流すための補助電極として機能する。さらに本発明の核膜検出用センサの核膜検出用セルの測定方式は、前記核膜固定化電極と、前記対極とを使用し、前記核膜固定化電極と、前記対極との間に任意の電圧を印加し、両電極間に生じる電気化学的変化を検出する二電極方式であっても良いし、前記二電極方式の核膜固定化電極又は対極にさらに参照電極をつなぐ三電極方式の電気化学的測定であっても良い。二電極方式では対極に電流が流れるため対極の電位を決めている電極/界面でのキャリアの濃度が変化し、基準となる電位自体が変化してしまうという欠点がある。一方、三電極方式においては、電流は核膜固定化電極と対極間に流れ、核膜固定化電極と参照電極の間、対極と参照電極との間ほとんど電流が流れず、また参照電極に対し所望の電位がかかるように核膜固定化電極と対極との間に電圧が印加されるので、基準となる電位（参照電極の電位）が変動しない。

【0020】本発明の核膜検出用センサによつてターゲット核膜又はアロップ核膜についての塩基塩基のようになれる。核膜を含む被検液の存在下で、前記核膜検出用セル内の核膜固定化電極と対極との間に電圧を印加する。ターゲット核膜とアロップ核膜との間にハイブリダイゼーションを生じさせた後、電極間に生じる電気化学的変化を検知する。ターゲット核膜がアロップ核膜とハイブリダイズすれば、電極間に電気化学的変化が生じる。従って、当該変化を感知すれば、アロップ核膜又はターゲット核膜が、特定の塩基配列を有するかどうかを検出することができる。前述したハイブリダイズにより電極間に生じる電気化学的変化は、被検液中に二本鎖認識体を添加し、その二本鎖認識体の化学的変化に由来する電流変化であることがそのまゝで、これにより測定を増量且つ精度良く行うことができる。

【0021】核膜固定化電極に固定化させるアローブ核酸鎖として、既知の塩基配列を有する核酸鎖を用いる。被検液中に前記アローブ核酸鎖とハイブリダイゼーション反応するターゲット核酸鎖が存在するか否かを検知してもよい。また、核膜固定化電極に固定化させるアローブ核酸鎖として未知の塩基配列を有する核酸鎖を用いる。そして、被検液中に既知の塩基配列を有する核酸鎖を含有させて、被検液中に前記アローブ核酸鎖とハイブリダイゼーション反応するターゲット核酸鎖が存在するか否かを検知する。このようにして、前記未知の塩基配列を有するアローブ核酸鎖の配列に対する知見を得てよい。

【0022】典型的には、複数の核膜固定化電極の各々には異なる種類のアローブ核酸鎖が固定化されている。各セル毎に異なる複数の検体を供給して一度に数検体の検定を行うために、同じ種類のアローブ核酸鎖を固定化してもよい。

【0023】各核膜検出セルに、核膜固定化電極が1個ずつ配設されているので、ターゲット核酸鎖が何れの核膜検出セルにハイブリダイズしたかを調べることで、ターゲット核酸鎖又はアローブ核酸鎖の配列についての知見が得られる。それ故、各核膜検出セルは独立して動作するように、各セルの各核膜固定化電極毎に電気信号を印加するためのスイッチング回路、デコーダ回路、又はタイミング回路と、各核膜検出固定化電極からの電気信号を出力する回路と、各核膜固定化電極からの電気信号を外部に出力する為のスイッチング回路を配設することが望ましい。

【0024】各セルの各核膜固定化電極毎に電気信号を印加するための前記スイッチング回路等の回路には複数の走査線が接続されている。走査線には、核膜固定化電極と信号線との間に配設されたトランジスタ、好ましくは薄層トランジスタなどのスイッチング素子を用いるための信号が与えられる。なお、本明細書において「信号線」は、作用電極である核膜固定化電極からの電気的変化を示す電極を伝達する導線を意味する。前記走査線からの信号によってスイッチング素子が開くと核膜固定化電極に電圧が印加されて電気化学的変化が生じる。該変化による電圧(や電流)の変化が前記信号線によって伝達される。このような複数の電極の制御には、液晶の表示に用いられているマトリクス方式を用いることが望ましい。更にはMIMISFETを用いたアクティブマトリクス方式であることが望ましい。また、MOSイメージセンサー型の走査回路も用いることが可能である。

【0025】図01に、各核膜固定化電極毎に電圧を印加するための回路を備えた典型例の核膜検出セルの構造を示す。図01は2電極方式の測定方式である場合を示す。図01の核膜検出セルにおいて、各核膜固定化電極102に接続されたスイッチング素子10

3は、タイミング回路106から、走査線104を駆動するための走査線駆動回路107に順次信号が与えられることにより開閉する。対極101はポテンシオスタット回路110を介して電源(図示せず)に接続されている。スイッチング素子103が順次開閉すると、核膜固定化電極102と対極101に電圧が印加される。これにより、核膜固定化電極102にハイブリダイズした核酸(図示せず)を電気化学的に検出できる。電気化学的変化は、信号線105を介して信号検出回路109に伝達されて検出される。

【0026】前記信号線は、図02に示されているように、スイッチング素子との接点以外は、絶縁材料で被覆することが好ましい。図02は、図01の核膜検出セル中の核膜検出セル(点線の矩形)を、核膜固定化電極と対極とを接続するように、走査線に平行に切断した場合の断面図である。図02では、絶縁基板201の上に、絶縁膜203で被覆された信号線202と、核膜固定化電極204と、対極205とが配設されており、信号線202は、被検液に浸漬されるので、信号線202とスイッチング素子との接点との交点以外は絶縁膜203で被覆されている。

【0027】絶縁材料で被覆された信号線、スイッチング素子、及び電極の配置は、図02の配置に限定されるものではなく、任意の配置でも良い。図03は、このような配置の一例であり、絶縁基板301の上に配設された核膜固定化電極302と対極(又は参照電極)303の下に、それぞれスイッチング素子304及び305が置かれている。スイッチング素子304及び305は、それぞれ異調に存在する絶縁膜306及び307で被覆されている。図03のように、スイッチング素子を各電極の下に置けば、核膜固定化電極と対極の上面に被検液308を添加しても信号線(図示せず)とスイッチング素子の接触部分が被検液308に接触しないので、絶縁性に優れている。図04の配置でも、図03と同様に各電極の下にスイッチング素子が置かれているので絶縁性に優れているが、スイッチング素子が被覆の裏面に露出する構造である点で、図03の配置とは異なる。

【0028】核膜検出セルを構成する各電極は、絶縁基板上に形成されることが望ましい。絶縁基板の材料として、例えば、ガラス、石英ガラス、シリコン、アルミナ、サファイア、フォスファイト、炭化硅、酸化珪素、窒化珪素、等の無機絶縁材料、又は、ポリエチレン、エチレン、ポリプロピレン、ポリビニルピレン、ポリエチレンテレフタレート、不飽和ポリエステル、含フッ素樹脂、ポリ塩化ビニル、ポリ塩化ビニリデン、ポリ酢酸ビニル、ポリビニルアルコール、ポリビニルエーテル、アクリル樹脂、ポリアクリロニトリル、ポリステレン、アセチレン樹脂、ポリカーボネート、ポリアミド、フェノール樹脂、ユリア樹脂、エポキシ樹脂、メラ

ミン樹脂、スチレン・アクリロニトリル共重合体、アクリロニトリルブタジエンスチレン共重合体、シリコン樹脂、ポリフェニレンオキサライド、ポリスルホン等の有機材料が使用可能であるが、これらに限定されない。

【0029】各電極、及び図層等は絶縁材料を介して分離されていることが望ましい。本発明で用いられる絶縁材料は特に限定されるものではないが、フォトリソマーム、フォトレジスト材料であることが好ましい。レジスト材料としては、光露光用フォトレジスト、露光外用フォトレジスト、X線用フォトレジスト、電子線用フォトレジストが用いられる。光露光用フォトレジストには、主原料が環化ゴム、ポリヘキサジエン、ノボラック樹脂があげられる。露光外用フォトレジストには、環化ゴム、フェニル樹脂、ポリメチルイソプロピルケトン（PMI-PK）、ポリメチルメタクリレート（PMMA）等が用いられる。また、X線用レジストには、COP、メルクアクリレートほか、薄膜ハンドブック（オーム社）に記載の物質を用いることができる。更に電子線用レジストには、PMMA等上記文献に記載の物質を用いることが可能である。ここで用いるレジストは100Å以上1mm以下であることが望ましい。フォトレジストで電極を被覆し、リソグラフィを行うことで、面積を一定にすることが可能になる。これにより、フロップ核酸類の固定化量がそれぞれ電極面に均一になり、再現性に優れた測定を可能にする。従来、レジスト材料は最終的には除去するが一般的であるが、核酸類固定化電極においてはレジスト材料は除去することなく電極の一部として用いることも可能である。この場合は、用いるレジスト材料に耐水性の高い物質を使用する必要がある。電極上部に形成する絶縁層にはフォトレジスト材料以外でも用いることが可能である。例えば、Si、Ti、Al、Zn、Pb、Cd、W、Mo、Cr、Ta、Ni等の酸化物、窒化物、炭化物、その他合金を用いることも可能である。これらの材料をスパッタ、蒸着あるいはCVD等を用いて薄膜を形成した後、フォトリソグラフィで電極露出部のパターニングを行い、面積を一定に制御する。

【0030】前記絶縁基板には、好ましくは10<sup>1</sup>〜10<sup>4</sup>の核酸類固定化電極が配置される。好ましい核酸類固定化電極の材料は金であるが、他の材料も使用可能であり、例えば、金の合金、銀、プラチナ、水銀、ニッケル、パラジウム、シリコン、ゲルマニウム、ガリウム、タングステン等の金属単体及びそれらの合金、あるいはグラファイト、グラシーカーボン等の炭素等、またはこれらの酸化物、化合物を用いる事ができる。これらの電極は、メッキ、自融、スパッタ、蒸着などでも作製することができる。蒸着を行う場合は、抵抗加熱法、高周波加熱法、電子線加熱法により電極膜を形成することができる。また、バックリングを行う場合は、直流2極スパッタリング、バイアスパッタリング、非対

称交流スパッタリング、グッタスパッタリング、高周波スパッタリングで電極膜を形成することが可能である。ここで、電極に金を使用する場合は、金の結晶構造の（111）面の配向指数が重要である。配向指数はWilsonの方法により以下の式から求められる。

【0031】配向指数（hkl）=1/F（hkl）/1/F（hkl）

hkl：面指数

1/F（hkl）：（hkl）面の相対強度

1/F（hkl）：ASTMカードに記載されている標準値としての1/F（hkl）

ここで核酸類固定化電極の場合には配向指数が1以上であることが求められ、更に配向指数が2以上であることが望ましい。配向性を高めるために、蒸着あるいはスパッタリング時に基板を加熱することも有効である。加熱温度は特に限定される物ではないが、50℃〜500℃の範囲であることが望ましい。配向性を制御することで、核酸類固定化量を均一に制御することが可能になる。また、ガラスなどの基板に金等の上記電極材料を蒸着、あるいはスパッタリングする場合には、基板と金との間にタンク、あるいはクロム、銅、ニッケル、これらの合金を緩着層として単独あるいは組み合わせて介在させることで、安定な電極層を形成することが可能になる。

【0032】核酸類固定化電極の形状は、特に限定されるものではなく、図05〜図07に示したような形状が好ましい。図06及び図07の形状を用いれば、核酸類固定化電極と対極（あるいは参照電極）との接触面積が大きいので有利である。図05〜図07は、核酸類固定化セル（図01の点線の矩形）を拡大した図であり、図01の場合と同じように、核酸類固定化電極501、601、及び701は、それぞれスイッチング素子503、603、及び703を介して番号線505、605、及び705に接続されている。対極（又は参照電極）502、602、及び702は、核酸類固定化電極501、601、及び701の近傍に配置されている。

【0033】核酸類固定化電極へフロップ核酸類を固定化するには、電極表面の活性化を行うことが望ましい。活性化は真鍮溶液中で電位掃引を行うことが可能である。また、活性化は、濃塩、王水、等でも行うことができる。フロップ核酸類を構成する材料は特に限定されるものではないが、DNA、RNA、PNA、その他核酸類酸体を用いることが可能である。

【0034】フロップ核酸類の固定化方法は特に限定されない。例えば、フロップ核酸類に導入したチオール基と金の結合を利用すると簡単に固定化を行うことができる。その他、物理吸着、化学吸着、疎水結合、密着、共有結合等で固定化が可能である。また、ビオチン・アビジン結合やカルボキシドなどの結合剤を用いることもできる。これらの場合、あらかじめ電極表面を官能基

を有する分子で修飾しておくことで、固定化を容易にすることができる。更に、電極表面への核被および侵入剤等の非特異的な吸着を抑制するために、電極表面をメルカプトエタノール等のメルカプタンや、ステアリルアミンなどの脂質で被覆することが望ましい。

【0035】以下、一例として、金からなる核被固定化電極にアロブ核被鎖を固定化する方法を述べる。電極は脱イオン水で洗浄後、活性化処理を行う。活性化には、0.1～1.0 mmol/Lの硫酸希液を用いる。この溶液中で、-0.5～2V (vs Ag/AgCl) の範囲で、1 $\mu$ s～100000 $\mu$ sの範囲で電位を走査させる。これにより、電極表面はアロブ核被鎖を固定化できる状態にまで活性化される。固定化に用いるアロブ核被鎖に付5'あるいは3'末端をチオール基を導入する。チオール化したアロブ核被鎖は、固定化直前までDTT等の還元剤の溶液に溶解し、使用直前にグルタールあるいは酢酸エチルによる抽出操作等でDTTを除去する。固定化は逆って簡便であり、イオン強度0.01～0.1の範囲でpH5～10の範囲内の緩衝液中にアロブ核被鎖を1 ng/mL～1 mg/mLの範囲になるように溶解し、活性化した直後の電極を浸漬する。固定化反応は、4～10℃の範囲で10分から1秒程度行う。

【0036】アロブ核被鎖を固定化した後の電極は、核被分解酵素(ヌクレアーゼ)が存在しない条件下で保存し、できれば遮光して行うことが望ましい。しかし、短期的な場合はウェット状態で保存することが可能である。保存液の組成はハイブリダイゼーション反応を行う際の組成、Trie-EDTA緩衝液あるいは脱イオン水であることが望ましい。更に、保存温度は4℃以下で、好ましくは-20℃であることが望ましい。また、アロブ核被鎖を固定化した核被鎖固定化電極を長期に保存する場合は、ドライ状態で保存することが望ましい。ドライにする方法は特に限定されないが、凍結乾燥、真空乾燥等を行うことができる。ドライの気相は特に限定されないが、アルゴン等の不活性ガス、窒素、乾燥空気、あるいは真空状態であることが望ましい。

【0037】電極は、それぞれに印加パルスを付けておくとか検出の操作係を上げることが可能である。

【0038】電極上へのアロブ核被鎖の固定化の際には、DNAソックやDNAアレイと呼ばれる固定化装置を用いると比較的容易にアロブ核被鎖の固定化を行うことができる。この際、電極の表面を傷つけないために、インクジェット方式や静電方式のスプレーを用いることが望ましい。また、電極表面で直接核被鎖の固定化を行うことも可能である。

【0039】本発明の核被鎖検出センサには、一以上の対極が配置される。単一の対極を配置する場合、複数の核被鎖固定化電極は、単一の対極を共通して使用することになる。

【0040】核被鎖固定化電極に所望の電圧を印加することができれば、核被鎖固定化電極と対極との距離は特に限定されない。応答速度を早くするためには、例えば、1 cm以内の距離に配置することが好ましい。

【0041】全ての核被鎖固定化電極に等しい電圧を印加するために、対極は全ての核被鎖固定化電極から等しい距離になるように配置することが好ましい。

【0042】対極に用いる材料も特に限定されず、核被鎖固定化電極で用いられる材料を使用することが可能である。

【0043】本発明の核被鎖検出センサを三電極方式で測定する場合は、参照電極を配置する。銀/塩化銀電極や水銀/塩化水銀電極などを参照電極として使用し得るが、他の任意の電極を使用し得る。

【0044】参照電極は、核被鎖固定化電極と同じ基板に配置するのが一般的であるが、これ以外の部位に配置してもよい。

【0045】対極又は参照電極の形状は、特に限定されないが、測定精度を高めるために、表面積を大きくしつつ、且つ被検液の流れを阻害しない形状が好ましい。例えば、対極又は参照電極と、核被鎖固定化電極とが互いに噛み合ったくし型にすれば、このような条件に適合する。

【0046】本発明に係る核被鎖検出センサは、核被鎖検出システムを構成していることが望ましい。当該システムは、複数の核被鎖検出用セルが形成された一または複数の基板と、前記基板を保持するための検出容器と、少なくとも一つ以上の送流のための開口部を有し且つ液体を貯留するための空間を有する容器と、外部機器へ接続するための端子を備えた構成を基本としている。

【0047】該システム上には、電気信号を対極および核被鎖固定化電極に印加する回路と、電気信号をそれぞれの対極およびそれぞれの核被鎖固定化電極に印加するためのスイッチング回路と、各核被鎖固定化電極からの電気信号を出力する回路と、各核被鎖固定化電極からの電気信号を外部に出力するためのスイッチング回路と、電源、ポテンショスタット、波形発生装置を備えることが望ましい。また、前記システムにはマイクロプロセッサに配置された特定の位置のMOSFETスイッチング素子および核被鎖固定化電極に電気信号を出力するためのデコード回路、スイッチング回路、タイミング回路、メモリ、A/Dコンバータ、波形発生装置、電源、ポテンショスタット、電気信号検出回路、等の回路を一つのセンサ上に集積することが望ましい。

【0048】核被鎖検出システムには、核被抽出機構、核被複製機構、核被増幅機構などを備えることが可能である。これらの機構を備えた核被鎖検出システムを用いれば、核被の抽出、増幅、検出などの一連の操作を全て自動的に行うことができる。

【0049】図08A及び図08B、図08Cには、核

液検出用システムを構成し得る核融液検出用センサの一例が示されている。

【0050】図08A及び図08B、図08Cの核融液検出用センサは、複数の走査線801と、走査線801と直行するように配置された信号線802と、走査線801と信号線802との各交点に配設された薄膜トランジスタ等のスイッチング素子803と、スイッチング素子803に接続された核融液固定化電極804と、各走査線801を駆動するための走査線駆動回路805と、各信号線802を駆動するための信号線駆動回路806が設けられた第1の基板807（図08A）と、各対極808が配置された第2の基板809（図08C）とを備える。各対極808はがデンシオスタット（図示せず）に接続される。なお、図08A及び図08Bでは、核融液固定化電極の一つしか書かれていないが、実際には、隣接する二本の走査線と隣接する二本の信号線とに囲まれた各近傍中にそれぞれ一つの核融液固定化電極804が設置される。

【0051】核融液中のターゲット核融液を検出するには、第1の基板807と第2の基板809の間に介在するスペースに前記核融液を導入した後、走査線駆動回路805からスイッチング素子803に駆動信号を与え、走査線駆動回路805から出力された駆動信号によりスイッチング素子803がオンになり、核融液固定化電極804と信号線802が電気的に接続される。核融液固定化電極804と信号線802が電気的に接続されること、核融液固定化電極804と対極808の間に電圧が印加される。これにより、例えば核融液固定化電極804にハイブリダイズしたターゲット核融液に挿入された挿入剤等の物質が酸化される。酸化によって発生した電流は、信号線802を通じて、信号線802の一端に設けられたパッド810に達し、該パッド810に接続された電圧検出用の外部回路によって検出、定量される。図08A及び図08B、図08Cの核融液検出用センサは、核融液知極811、走査線駆動回路805、信号線駆動回路806が一体となって第1の基板807上に形成されており、信号検出部を備えた核融液検出システムに装着して使用される。

【0052】また、図09A及び図09Bに示したような形状で、対極704は走査線801に電気的に接続されており核融液固定化電極の近傍に設置されていてもよい。図09A及び図09Bでは、対極705は二本に分岐した各枝がくし型の形状を有しており、同じ形状を有する核融液固定化電極905と互いにかみ合うように配置されている。なお、図08A及び図08B、図09A、図09Bには参照電極が設けられていない形態の核融液検出用センサを示したが、参照電極を設けることもよい。参照電極は、図09Aに示すように核融液固定化電極と互いにかみ合うくし型電極であってもよい。なお、参照電極が核融液固定化電極毎に設けられる実施の形態の回路

例については後述する。

【0053】図10には、本発明の核融液検出用センサが配置された核融液検出システムの概略が示されている。【0054】図10に示す核融液検出システム1007は、核融液検出用センサ1001、核融液検出用センサ固定装置1002、電気信号測定装置1003、CPU1004、電源1005、及び表示装置1006を備えている。

【0055】上記のシステムにおいて、核融液検出用センサは、通常、図11A及び図11Bのように、接触端子1101によって、挿脱可能に基板1102上に設置される。容器1108に収められる、基板1102は、図112のごとく、例えばその周囲に接続端子挿入部1201を有している。図11A及び図11Bにおいて、被験液1103は、核融液検出用センサ1104を浸漬せしめ得るように被験液注入口1106を開閉した状態で、底部に設けられた被験液注入口1105から注入される。被験液1103によって核融液検出用センサ1104を浸漬した後には、被験液1103に含まれる核融液を核融液検出用センサ1104上の核融液固定化電極（図示せず）にハイブリダイズさせる。ハイブリダイズ中に核融液検出用センサ1104を加温するときには、酸化した核融液は空穴1107を通して排出される。被験液中にターゲット核融液が含まれていれば、ターゲット核融液は、核融液検出用センサ1104上の核融液固定化電極（図示せず）にハイブリダイズする。従って、被験液1103を被験液排出口1106から排出させた後に核融液固定化電極に結合し続ける。図13A及び図13Bのように、被験液注入口1305及び被験液排出口1306は、基板1302の垂直な位置に設けてもよい。

【0056】以下、本発明の核融液検出用センサを用いて被験液中のターゲット核融液又はアロパチン核融液についての発見を得るための操作について詳述する。

【0057】まず、核融液固定化電極と対極との間に介在する空間中にターゲット核融液を含む被験液を注入する。

【0058】検出するターゲット核融液は、特に限定されず、ウイルス、細菌、真菌、寄生虫等の伝染病や遺伝性疾患の原因遺伝子や各種変異のマーカー遺伝子などで良い。例えば、肝炎ウイルス（A、B、C、D、E、F、G型）、HIV、インフルエンザウイルス、ヘルペス群ウイルス、アデノウイルス、ヒトポリオマウイルス、ヒトパピローマウイルス、ヒトパルボウイルス、エボラウイルス、ヒトタカウイルス、エンテロウイルス、日本脳炎ウイルス、デングウイルス、風疹ウイルス、HIV、等のウイルス感染症、黄色ブドウ球菌、溶血性連鎖球菌、病原性大腸菌、肺炎球菌、ヘルシコバクターヒリ菌、カンピロバクター、コレラ菌、赤痢菌、サルモネラ菌、エンテラ菌、淋菌、リステリア菌、レプトスピラ、レジオネラ菌、スピロヘータ、肺炎



マイコプラズマ、リケッチア、クラミジア、マラリア、赤痢アメーバ、病原真菌、等の細菌感染症、寄生虫、真菌の検出に用いることができる。また、遺伝性疾患、神経細胞腫瘍、ウイルス腫瘍、家族性大腸ポリポシス、遺伝性非ポリポシス大腸癌、神経線維腫症、家族性乳がん、色素性乾皮症、膵臓癌、口腔癌、食道癌、胃がん、大腸癌、肝臓癌、膵臓癌、肺がん、甲状腺腫瘍、乳腺腫瘍、泌尿器腫瘍、男性器腫瘍、女性器腫瘍、皮膚腫瘍、骨・軟部腫瘍、白血病、リンパ腫、固形腫瘍、等の癌高性疾患の検査にも用いることができる。また、医療以外にも、食品検査、検疫、医薬品検査、法医学、農業、畜産、漁業、林業などで遺伝子検査が必要なものに全て適用可能である。更に、制御酵素断片多系(RFLP)や1塩基多系(SNP)、マイコサテライト配列等の検出も可能である。また、未知の塩基配列解析に用いることも可能である。

【0059】これらのターゲット核酸を含有する被検液も特に限定されない。例えば、血液、血清、白血球、尿、便、精液、唾液、組織、培養細胞、培養液を用いることができる。これら被検液からは、通常核酸成分の抽出を行う。抽出方法は特に限定されず、例えば、フェノール-クロロホルム法等の液-液抽出法や柱体を用いる固液抽出法を用いることができる。また、市販の核酸抽出方法QIAamp(QIAGEN社製)、スミテスト(住友金属工業)等を利用することも可能である。

【0060】被検液を前記装置に注入した後に、抽出した核酸成分を核酸抽出用電極とハイブリダイゼーション反応を行う。反応溶液は、イオン強度0.01~5.0の範囲、pH5~10の範囲の緩衝液中で行う。この溶液中にはハイブリダイゼーション促進剤である硫酸テキストランや、サケ精子DNA、牛胸腺DNA、EDTA、界面活性剤などを添加することが可能である。ここに抽出した核酸成分を添加し、90℃以上で熱変性させる。核酸抽出用電極の挿入は、変性直後、あるいは0℃に急冷後に行うことができる。反応中は、攪拌、あるいは振とうなどの操作で反応速度を高めることもできる。反応温度は10℃~90℃の範囲で、また反応時間は1分以上1時間以下で行う。ハイブリダイゼーション反応は電気化学的に制御が可能であり、核酸抽出用電極にプラス電位を印加することによって数時間から数日必要であったものを数分に短縮することが可能である。一方、電極表面にマイナス電位を印加すると、非特異的な結合は除去される。

【0061】ハイブリダイゼーション反応が終了したら、核酸抽出用電極の洗浄を行う。洗浄には、イオン強度0.01~5.0の範囲で、pH5~10の範囲の緩衝液を用いる。

【0062】洗浄後、電極表面に形成された二本鎖部分(プローブ核酸とターゲット核酸)のハイブリッドに選択的に結合する二本鎖認識剤、すなわち挿入剤

を作用させ、電気化学的な測定を行う。ここで用いられる挿入剤は特に限定される物ではないが、例えば、ヘキスト33258、アクリジノオレンジ、キナクリン、ドクノマイシン、メタロインターカラーター、ビスアクリジン等のビスインターカラーター、トリスインターカラーター、ポリインターカラーター等を用いることが可能である。メタロインターカラーターと呼ばれるルテニウム、コバルト、鉄などの金属錯体や、エチジウムブロマイド等の有機化合物、抗体、酵素などの生体高分子を用いることも可能である。

【0063】挿入剤の濃度は、その種類によって異なるが、一般的には1 ng/mL~1 mg/mLの範囲で使用される。この際、イオン強度0.001~5.0の範囲で、pH5~10の範囲の緩衝液を用いる。

【0064】核酸抽出用電極を挿入剤と反応させた後に、洗浄し、電気化学的な測定を行う。電気化学的な測定は、3電極方式、すなわち参照電極、対極、作用電極、あるいは2電極方式、すなわち対極、作用電極で行う。測定では、挿入剤が電気化学的に反応する電位以上の電位を印加し、挿入剤に由来する反応電流値を測定する。この際、電位は定速で掃引するか、あるいはパルスで印加するか、あるいは、一定電位を印加することができる。測定には、ポテンショスタット、デジタルマルチメータ、ファンクションジェネレータ等の装置を用いて電流、電圧を制御する。得られた電流値を基に、検量線から検出濃度の値を算出する。

【0065】電気化学的な信号は、酸化還元電位変化、酸化還元電位変化、電気容量変化、抵抗変化、電気化学発光変化を指標にすることが可能である。これらの信号変化は挿入剤等の二本鎖核酸に特異的に結合する物質の併用により効果が増進される。

【0066】本発明の第1の核酸抽出用センサは、核酸抽出用電極と、対極との間に被検液が流れるように、核酸抽出用電極と対極とが対向配置されていることを特徴とする。

【0067】従来のDNAアレイを構成する核酸抽出用センサを、図14C及び図14Dに示す。既知配列を有するプローブ核酸1402が固定化された複数の核酸抽出用電極1401と対極1404とが同一の基板上に配設され、被検液1406は、図14Cの被検液1403上を流れる。当該配置では、対極1404と各核酸抽出用電極1402の距離が各核酸抽出用電極1401毎に異なる。このような構成では、図14Cの被検液1403上を流れる場合、対極1404と各核酸抽出用電極1401との距離が各核酸抽出用電極1401毎に異なるため、十分な測定精度を達成することもできない。

【0068】これに対して、図14A及び図14Bに示した本発明の第1の核酸抽出用センサでは、プローブ核

被験液1402が固定化された核酸鎖固定化電極1401と対極1404は板状電極であり、被験液1406を挟持し得るように対向して配置されている。当該配置によれば、第1の基板1403上の各核酸鎖固定化電極1401は全て、第2の基板1405上の対極1404から等しい距離で、且つ対極1404の近傍に配置することができ、このため、このような配置で電極が設置された核酸鎖検出用センサを用いれば、各核酸鎖固定化電極1401上のアプローブ核酸鎖1402とハイブリダイズした被験液1406中の検出すべきターゲット核酸鎖全てに等しい電圧を印加することが可能となる。従って、測定精度と応答速度が向上する。また、第1の基板1303と第2の基板1305の間に被験液1306が注入されるので、必要な被験液の量を減らすこともできる。なお、図14Aは、第1の基板1403の上に参照電極1407が配置されている核酸鎖検出用センサを示している。図14Bは、第1の基板1403の上に参照電極1407が配置されている核酸鎖検出用センサを示している。

【0069】本発明の第1の核酸鎖検出用センサにおいて、核酸鎖固定化電極が検体基板上に形成されている場合、対極は、核酸鎖固定化電極とともに被験液の流路を挟むように、核酸鎖固定化電極が配置された基板とは異なる基板に配置される。

【0070】対極と核酸鎖固定化電極とは異なる基板に配置すればよいが、全ての核酸鎖固定化電極に等しい電圧を印加するためには対極はすべての核酸鎖固定化電極から等しい距離になるように配置することが好ましい。例えば、対極は、前記平面と平行な平面上に配置すればよい。核酸鎖固定化電極が球面上に配置されているときには、対極は、前記球面と同一の球面上に配置すればよい。本発明の第1の核酸鎖検出用センサにおいては、核酸鎖固定化電極と、対極と共に平面を有し、その平面間隔が対向するように配置されることが、省スペース化の点から望ましい。

【0071】本発明の第1の核酸鎖検出用センサにおいては、複数の核酸鎖検出用セルを備えており、各セルには一以上の核酸鎖固定化電極が配置されており、対極は一つの核酸鎖固定化電極に対して一つずつ設けてもよい。複数の核酸鎖検出用セル間で共通、つまり、例えば、板状の核酸鎖固定化電極に対して対極は一つであってもよい。

【0072】本発明の第1の核酸鎖検出用センサに配置すべき対極の材料、核酸鎖固定化電極との距離は上述のとおりである。

【0073】本発明の第1の核酸鎖検出用センサにさらに参照電極を配置する場合、核酸鎖固定化電極と同じ基板に配置するのが好ましい。参照電極は、これ以外の部位に配置してもよい。

【0074】本発明の第2の核酸鎖検出用センサは、参照

電極を各セルに設けたことを特徴とする。

【0075】本発明の第2の核酸鎖検出用センサにおいて、対極は、複数の核酸鎖固定化電極に共通であってもよく、核酸鎖検出用セル毎に配置してもよい。対極を複数配置する場合にも、対極は、前記信号線又は定電流線の何れに接続してもよい。

【0076】核酸鎖固定化電極、対極、及び多価電極の材料、核酸の測定のための操作などは、上述した本発明の核酸鎖検出用センサの一般的な構成及び使用法に記載されているとおりである。すなわち、アプローブ核酸鎖とターゲット核酸鎖との間で形成されたハイブリッド核酸鎖による電気化学反応を利用することにより、前記アプローブ核酸鎖またはターゲット核酸鎖が特定の塩基配列を有するか否かを検出する。

【0077】このように、核酸鎖固定化電極毎に参照電極を備えれば、核酸鎖固定化電極と参照電極間の未補償抵抗が減少して、測定精度が向上する。核酸鎖固定化電極毎に電位を制御することができるように、核酸鎖固定化電極毎に参照電極を備えることが望ましい。

【0078】本発明の第2の核酸鎖検出用センサは、例えば、図15に示すような、コントロールアンプ、ボルテージフロアアンプ、カレントフロアアンプとして機能するオペアンプ1607、オペアンプ1608、及びオペアンプ1609を備えた微小電流測定用ポテンショスタット回路を使用している。簡単のために、図15のポテンショスタット回路には核酸鎖固定化電極が一つしか図示されていないが、実際には、本発明の第2の核酸鎖検出用センサには複数の核酸鎖固定化電極が設置されている。

【0079】この回路は、それぞれコントロールアンプ、ボルテージフロアアンプ、カレントフロアアンプの機能を有する3つのオペアンプを備えている。これらの回路は、微小電流測定用という点で従来の回路とは異なっている。それ故、本発明の核酸鎖検出用センサに使用し得るポテンショスタット回路は微小電流測定用であればよい。

【0080】図15の回路中の各オペアンプの構成は以下のとおりである。

【0081】オペアンプ1607は、反転増幅回路の一部を成しており、対極1602に $e_f$ （ここで $e_f$ とはコモン電位を基準としたときの点 $f$ の電位を意味するものとする。（以下同じ）の $(1+21/R_f)$ 倍の電圧を加えることによって、 $e_f$ を $e_a$ （すなわち $V_{cc}$ ）に対して一定に保つ（ここで、 $Z_f$ は、対極1602から参照電極1603に至る電気化学系のインピーダンスを表す）。オペアンプは、負帰還を有しているため、 $e_a$ は $e_b$ （コモン電位）と等しい。図中で、コモンは接地されているが、必ずしも接地しなくてもよい。

【0082】オペアンプ1608は、入力電圧を $Z_{in}/Z_{out}$ 倍に増強する機能を有している（ $Z_{in}$ 及び

ズoutは、それぞれ入力インピーダンス及び出力インピーダンスである)、ZinはZoutに比べて非常に高くなる、出力電力は入力電力に比べて著しく大きくなる、オペアンプ1608の機能によって、参照電極1603の内部抵抗は無視できることになる。

【0083】オペアンプ1609は負帰還を有しているため、egはehに等しく、それ故、スイッチング素子1604によって核酸鎖固定化電極1601が信号に接続されると、核酸鎖固定化電極1601の電位はモンの電位に等しくなる。従って、オペアンプ1609は、作動電極である核酸鎖固定化電極1601の電位をモンの電位に等しくさせる役割を果している。入力電圧をVとすると、点tと点a間の抵抗(図示せず)及び点aと点f間の抵抗の比を1にすれば、オペアンプ1607の作用により、参照電極1603の電位は、-Vとなる。回路中の抵抗の誤差値、及び抵抗の使用の有無は、所望の増幅率等に応じて適宜選択すればよい。核酸鎖固定化電極1601の電位はモンの電位に等しいから、核酸鎖固定化電極1601(作動電極)と参照電極1603との間には、正確に入力電圧に等しい電圧が印加される。点gが核酸鎖増強されているため、走査線1606に接続されたスイッチング素子1604によって核酸鎖固定化電極1601に電圧を印加することによって生じる電流は、信号線1605上の点gから抵抗1610を経て点tに流す。抵抗1610による電圧降下を測定することによって、電流の大きさを測定することができる。

【0084】点gと点tの間の抵抗1610を測くと、抵抗の両端の電位差によって核酸鎖固定化電極1601の電位に誤差が生じる。しかし、点gと点tの間に抵抗1610を置いても、egはモンの電位に等しいため、核酸鎖固定化電極1601の電位に誤差は生じない。従って、高精度の電気化学的測定が可能となる。

【0085】図16の回路は、第2の核酸検出用センサに使用される他のポテンショスタット回路であり、図15の回路と同様に電圧を一変に与える機能を有する。それ故、オペアンプ1707、1708及び1709の機能は、図15の回路の対応するオペアンプと同じである。

【0086】本実施形態の核酸検出用センサに回路は、図15と同様に、核酸鎖固定化電極毎に参照電極が配置されているので、従来の回路に比べて、測定精度を有する。

【0087】図16においては、簡単なために、参照電極は一つしか描かれていないが、実際には、各核酸鎖固定化電極毎に1以上配置されている。

【0088】なお、図16の回路では、走査線に印加される電位で基準電位を兼ねているので、オペアンプ1708の非反転入力端子から出る信号線は、複数の電極に対して共通で用いられており、核酸検出用セル当たりの総数には含まれない。

【0089】以上のように、本実施形態の核酸検出用セ

ンサは、簡易な配線で、非常に高い測定精度を達成することができる。

【0090】図17の回路は第2の実施形態の核酸検出用センサに使用される更に他のポテンショスタット回路であり、図17の回路は、図15及び図16の回路と同様に電圧を一変に与える機能を有する。それ故、ポテンショスタット1807、1808、及び1809の機能の詳細は、図15又は図16で記載したとおりである。

【0091】図17の回路は、図16の回路とは異なり、参照電極1803は、走査線1806ではなく、信号線1804に接続されている。このため、図17の回路は、参照電極1803が、走査線1804に接続されていない。従って、参照電極の基準電位は、走査線1806の電位と兼ねておらず、印加する電位を自由に設定できる。このため、図17の回路では、図16の回路に比べて多種類の挿入剤を使用することができる。

【0092】図17では、参照電極1803はスイッチング素子1804に接続されているが、スイッチング素子は省略してもよい。

【0093】また、図17では、核酸鎖固定化電極1801と参照電極1803がオペアンプ1808の非反転入力端子に接続された導線を挟むように配置されている。両極が向かい合うように、参照電極1803を核酸鎖固定化電極1801と同じ側に配置してもよい。

【0094】以上のように、図17の回路は、高い測定精度を達成することができるとともに、多種類の挿入剤を使用することができる。

【0095】図18～図21を参照しながら、本発明の第3の核酸検出用センサについて説明する。本発明の第3の核酸検出用センサは、スイッチング素子により、信号線を共有化したことを特徴とする図18は、通常使用される核酸検出用センサの上面図であり、図18においては、4×NのX-Yマトリックス状に、アロウ核酸鎖(図示せず)が配列された核酸鎖固定化電極1901が配置されている。なお、実際の核酸鎖検出用センサでは、対極は、核酸鎖固定化電極1901が配置された平面の鉛直上方に位置しているが、図18では省略されている。

【0096】各核酸鎖固定化電極1901は、対極とともに核酸検出用セルを形成している。

【0097】各核酸鎖固定化電極1901は、トランジスタ等のスイッチング素子1902を介して信号線1903と接続されており、信号線1903はさらに核酸鎖固定化電極1901からの電流を増幅するためのアンプ1904及びA/Dコンバータ1905に接続されている。

【0098】スイッチング素子1902には、走査線1906を介してタイミングパルス発生器1909からクロック信号が与えられるので、核酸鎖固定化電極1901は、図中矢印の方向に左端から一列ずつ順次アクティ

ブとなるように走査される。図18のカウンタ1908及びXデコーダ1907は信号線のC-N-OFBを制御する。核線固定化電極1901がアクティブとなると、核線固定化電極1901と対極（図示せず）との間に電圧が印加され、核線固定化電極1901上にハイブリタイズしたターゲット核線に挿入された検入部が酸化される。酸化時に生じた電気的変化は、信号線1903を介して増幅アンプ1904で増幅された後に、A/Dコンバータ1905によりA/D変換される。

【0099】図19は、本発明の第3の核線検出用センサの回路例を示す図である。図19の核線検出用センサは、行方向にスイッチング素子が配置され、図19中の上から下に走査される点が、図18の核線検出用センサと異なっている。

【0100】図19において、核線固定化電極2001は、4/3のX-Yマトリクスに配置されており、各核線固定化電極2001と対極（図示せず）とが核線検出用セルを構成している。

【0101】各核線固定化電極2001は、アンプ2002及び電極スイッチング素子2003を介して信号線2004と接続されている。各信号線2004の一端には、信号線スイッチング素子2005が接続されており、その検出信号線2006は一つになり、A/Dコンバータ2007に接続されている。

【0102】電極スイッチング素子2003には、Xデコーダ2007とカウンタ2008により構成される列方向走査回路から、信号線2012を介して順次電気信号が与えられる。一方、信号線スイッチング素子2005には、Yデコーダ2009とカウンタ2010により構成される行方向走査回路から、順次電気信号が与えられる。

【0103】図20のように、タイミングパルス発生器2011から生成されるクロック信号を、それぞれX方向クロック信号、Y方向クロック信号として列方向走査回路と行方向走査回路に与えれば、一列一行目の電極（左上隅の電極）から一列二行目の電極、さらに一列三行目、二列一行目の電極に電圧が印加される。電圧の印加によって生じた電気的変化はシリアル信号として計測され、出力信号はA/D変換器でA/D変換される。

【0104】図19の核線検出用センサでは、順次行方向からの電気信号を検出するために、デコーダとカウンタにより構成される走査回路を用いた核線検出用センサを示した。図21に示すように図19のデコーダとカウンタは、シフトレジスタ回路2210に置き換えることができる。図21の核線検出用センサの構成は、デコーダとカウンタがシフトレジスタ回路に置き換えられていることを除いて図19のものと同一である。このように、シフトレジスタ回路を用いると、外装回路構成が簡潔になる。

【0105】図19及び図21に示した第3の核線検出

用センサは、図18に示した核線検出用センサと比較して、測定を高速化し得るという効果も奏する。

【0106】なお、本発明に係る第1から第3の核線検出用センサは、単独で使用することも可能であるし、適宜組合わせて使用することもできる。

【0107】

【発明の効果】以上述べたごとく、本発明によれば、多層線の核線を高速、且つ高精度に検出することができる核線検出用センサを提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 複数の電極が配置された本発明の実施例の核線検出用チップを示す模式図。

【図2】 本発明の実施例の核線検出用チップにおける電極と信号線の配置を示した図。

【図3】 本発明の実施例の核線検出用チップにおける電極と信号線の他の配置を示した図。

【図4】 本発明の実施例の核線検出用チップにおける電極と信号線の他の配置を示した図。

【図5】 複数の電極が配置された本発明の実施例の核線検出用チップの単位区画の拡大図。

【図6】 複数の電極が配置された本発明の実施例の核線検出用チップの単位区画の拡大図。

【図7】 複数の電極が配置された本発明の実施例の核線検出用チップの単位区画の拡大図。

【図8】 図8A及び図8Bは、核線検出用システムに装着可能な核線検出用チップを示した図。

【図9】 図9A及び図9Bは、核線検出用システムに装着可能な核線検出用チップを示した図。

【図10】 核線検出用チップが配置された核線検出用システムを示した図。

【図11】 図11A及び図11Bは、電極に収納された本発明の実施例の核線検出用チップを示す図。

【図12】 本発明の実施例の核線検出用チップを装着すべき基板を示す図。

【図13】 図13A及び図13Bは、電極に収納された本発明の実施例の核線検出用チップを示す図。

【図14】 図14A～図14Dは、電極が対向した位置に配置されている本発明の実施例の核線検出用チップと電極が対向した位置に配置されていない従来の核線検出用チップとを比較した図。

【図15】 本発明の第2の核線検出用チップの実施例に適用される回路の一例を示す図。

【図16】 本発明の第2の核線検出用チップの実施例に適用される回路の他の一例を示す図。

【図17】 本発明の第2の核線検出用チップの実施例に適用される回路の他の一例を示す図。

【図18】 電極が対向した位置に配置された本発明の実施例の核線検出用チップの構成を示した図。

【図19】 電極が対向した位置に配置された本発明の

実施例の核酸検出用チップにおける配線を示した図。

【図20】 各単位区画に電圧を印加するための信号及び出力信号を示した図。

【図21】 電極が対向した位置に配置された本発明の実施例の核酸検出用チップにおける配線を示した図。

【符号の説明】

1401…核酸鎖固定化電極

1402…アロップ核酸鎖

1403…第1の基板

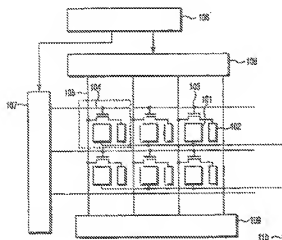
1404…分極

1405…第2の基板

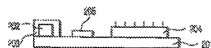
1406…被膜液

1407…参照電極

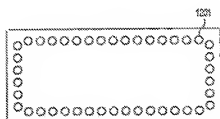
【図1】



【図2】



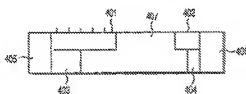
【図12】



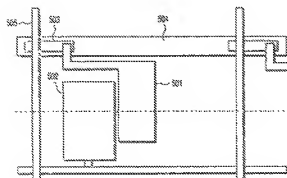
【図3】



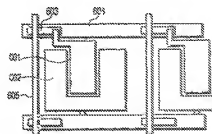
【図4】



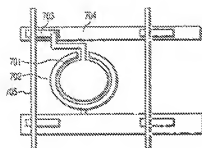
【図5】



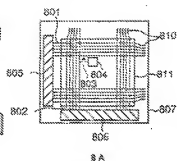
【図6】



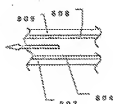
【図7】



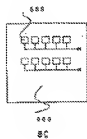
【図8】



8A

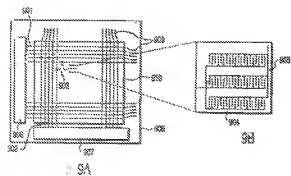


8B



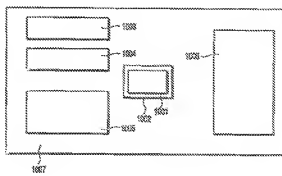
8C

【図9】



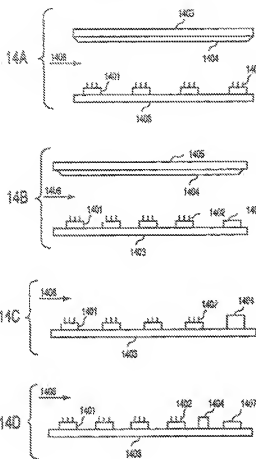
9A

【図10】

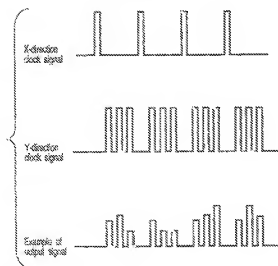




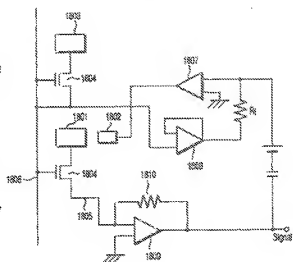
【図14】



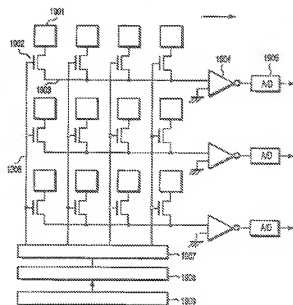
【図20】



【図17】

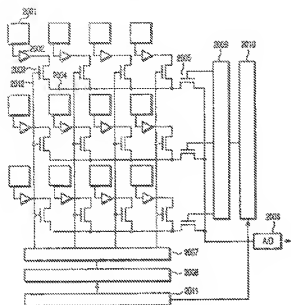


【図18】

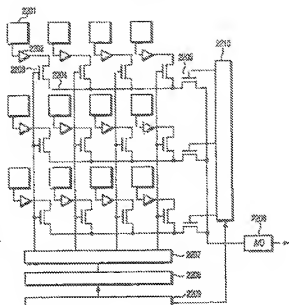




【図 19】



【図 21】



フロントページの続き

(51)Int. Cl.<sup>7</sup> 識別記号  
 G01N 33/483  
 33/566  
 37/00 102  
 // C12Q 1/68

F I (参考)  
 G01N 37/00 102  
 C12Q 1/68 A  
 C12N 15/00 F  
 G01N 27/46 336G  
 336B  
 301M

(72)発明者 逸見 和弘  
 神奈川県川崎市幸区小向東芝町 1 番地 株  
 式会社東芝研究開発センター内  
 (72)発明者 鈴木 公平  
 埼玉県深谷市鶴舞町一丁目 9 番地 2 号 株  
 式会社東芝深谷工場内

F ターム(参考) 20045 DA12 DA13 FB02 FB05  
 4B024 AA19 AA20 CA01 CA11 HA14  
 HA19  
 4B029 AA23 BB20 CC03  
 4B063 QA01 QA13 QA18 QA42 QQ52  
 QR32 QR35 QR55 QS34